

基于网络药理学和动物实验探讨五加减正气散及其拆方对腹泻型肠易激综合征的作用

马源鑫¹, 贺昌辉¹, 窦 鑫¹, 潘海迪¹, 孙 月¹, 温晓晴¹, 邓华亮^{2*}, 王 伟^{2*}
(1. 山东中医药大学第一临床医学院, 山东 济南 250014; 2. 山东中医药大学附属医院, 山东 济南 250012)

摘要: **目的** 探究五加减正气散及其拆方(运脾化湿方、理气消导方)对脾虚湿阻型腹泻型肠易激综合征(IBS-D)的干预机制。**方法** 首先借助网络药理学和分子对接预测五加减正气散治疗 IBS-D 的核心靶点与关键通路,随后通过动物实验进行验证。采用“番泻叶灌胃+束缚夹尾刺激+寒湿环境”法诱导脾虚湿阻型 IBS-D 大鼠模型,造模成功后随机分为模型组、亿活组(0.10 g/kg)、五加减正气散组(8.06 g/kg)、运脾化湿组(4.22 g/kg)和理气消导组(3.84 g/kg),每组 5 只,另取 5 只大鼠作为空白组,各组给予相应药物,连续 14 d。记录大鼠一般情况、粪便性状与内脏敏感性;HE 染色观察结肠组织病理形态;ELISA 法检测血清 MTL、GAS 水平;qRT-PCR 法检测结肠组织 *TNF-α*、*COX-2* mRNA 表达;Western-blot 法检测结肠组织 Claudin-1、Occludin、TRAF6、IL-17RA、NF-κB p65、p-NF-κB p65 蛋白表达。**结果** 网络药理学与分子对接结果显示,五加减正气散可能通过 IL-17RA/TRAF6/NF-κB 通路发挥对 IBS-D 的治疗作用。动物实验显示,与模型组比较,五加减正气散组大鼠结肠组织病理形态改善,且对上述指标均具有一定改善效果($P<0.05$, $P<0.01$)。与五加减正气散组比较,运脾化湿组大鼠结肠组织 *TNF-α*、*COX-2* mRNA 表达和 Claudin-1、Occludin、IL-17RA、TRAF6、p-NF-κB p65/NF-κB p65 蛋白表达差异无统计学意义($P>0.05$);理气消导组血清 MTL、GAS 水平差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 五加减正气散及其拆方均可通过抑制 IL-17RA/TRAF6/NF-κB 信号通路,减轻肠道炎症,修复肠黏膜屏障,提升胃动力,进而治疗脾虚湿阻型 IBS-D, 全方综合疗效最佳,两拆方功效各有侧重。

关键词: 五加减正气散; 运脾化湿方; 理气消导方; 拆方; 腹泻型肠易激综合征; IL-17RA/TRAF6/NF-κB 通路
中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2026)07-2426-09
doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2026.07.041

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是一种临床常见的功能性肠病,表现为与排便相关的反复腹痛、腹胀,伴或不伴有排便习惯的改变,其中腹泻型肠易激综合征(diarrhea-predominant irritable bowel syndrome, IBS-D)为最主要亚型^[1]。近年来,IBS-D 患病率逐渐上升,其病程迁延,不仅严重影响患者的情绪状态、生活质量和工作效率,也给社会带来沉重的医疗负担^[2]。目前,该病的发病机制尚未完全明确,西医治疗以解痉、止泻、调节肠道微生态等方式为主,疗效有限且复发率较高^[3]。中药凭借多成分、多靶点、多机制协同作用的优势,在 IBS-D 的治疗中显示出良好的应

用和发展潜力^[4]。IBS-D 属中医学“泄泻”“腹痛”等范畴,脾虚湿阻为本病的关键病机。五加减正气散源自清代吴鞠通所著《温病条辨》,由藿香、苍术、茯苓、陈皮、厚朴、大腹皮、谷芽 7 味药组成,具有化湿和中、运脾消导之功,临床治疗脾虚湿阻型 IBS-D 疗效确切^[5-7]。然而,其具体作用机制仍不清楚,方中各组分药效差异亦未阐明。基于此,本研究将五加减正气散按性味功效拆分为运脾化湿方和理气消导方,与全方对比,观察不同组方对脾虚湿阻型 IBS-D 大鼠的作用差异,同时结合网络药理学和分子对接技术,探讨其潜在的作用机制,以期对 IBS-

收稿日期: 2026-03-27
基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(81904128); 国家中医药管理局科技司共建科技项目(GZY-KJS-SD-2023-035); 山东省重点研发计划(竞争性创新平台)(2025CXPT147); 山东省中医药疗效机理重点实验室项目(PKL2024C23); 山东省中医药重点学科项目——中医脾胃病学(鲁卫中医药科教学[2022]4号)
作者简介: 马源鑫(2002—),女(回族),硕士在读,从事中医治疗消化系统疾病的研究。E-mail: mayuanxin0608@163.com
*通信作者: 王 伟(1983—),女,博士,副主任医师,从事中医治疗消化系统疾病的研究。E-mail: smiling365@163.com
邓华亮(1971—),男,博士,主任医师,从事消化系统疾病中西医结合临床诊疗研究。E-mail: dhl1002@sina.cn

D 的临床防治提供新的研究证据与理论参考。

1 材料

1.1 动物 SPF 级雄性 SD 大鼠 30 只, 8 周龄, 初始体质量 (200±20) g, 购于济南朋悦实验动物繁育有限公司 [实验动物生产许可证号 SCXK (鲁) 20190003], 饲养于山东中医药大学附属医院实验动物中心, 环境温度 (22±2)℃, 相对湿度 (50±5)%, 12 h/12 h 昼夜循环, 持续通风, 自由摄食饮水。本实验方案经山东中医药大学实验动物福利伦理审查委员会批准 (批准文号 SDSZYYAW20230721001)。

1.2 药物与试剂 藿香、陈皮、番泻叶、麸炒苍术 (山东百味堂中药饮片有限公司, 批号 250802、250802、240507、250901), 厚朴、茯苓、炒谷芽 (亳州市沪谯药业有限公司, 批号 2508150032、2508060057、2506290602), 大腹皮 (安徽威海堂中药饮片有限公司, 批号 2025080355), 均购自山东中医药大学附属医院。布拉氏酵母菌散/亿活 (法国百科达制药厂, 批准文号国药准字 SJ20150051)。苏木素-伊红 (HE) 染液 (武汉赛维尔生物科技有限公司, 货号 G1005); β-肌动蛋白 (β-actin)、肿瘤坏死因子受体相关因子 6 (TRAF6)、白介素-17 受体 A (IL-17RA)、细胞内核因子 (NF) -κB p65、磷酸化 (p) -NF-κB p65 抗体、辣根过氧化物酶 (HRP) 标记山羊抗兔二抗 (武汉爱博泰克生物科技有限公司, 货号 AC038、A16991、A5163、A19653、AP1294、AS014); 紧密连接蛋白 1 (Claudin-1)、闭合蛋白 (Occludin) 抗体 (武汉三鹰生物技术有限公司, 货号 27260-1-AP、28674-1-AP); 胃动素 (MTL)、胃泌素 (GAS) 酶联免疫吸附法 (ELISA) 检测试剂盒 (上海酶联生物科技有限公司, 货号 ml003079、ml862256); 动物组织总 RNA 提取、逆转录、Fast Taq SYBR Green qPCR Mix 试剂盒 [信天翁生物科技 (广州) 有限公司, 货号 400-103、500-101、500-102]。

1.3 仪器 KZ-5F-3D 型三维冷冻研磨仪、SPW-DM 型电泳电源 (武汉赛维尔生物科技有限公司); Tanon-5200 型化学发光成像系统 (上海天能科技有限公司); TGL-20R 型医用离心机 (山东百欧医疗科技有限公司); WS-10 型病理切片扫描仪 [智跃医疗科技 (江苏) 有限公司]; Light Cycler 480 II 型实时荧光定量 PCR 仪 (瑞士 Roche 公司); Biometra TOne 96G 型 PCR 热循环仪 (德国

Analytik Jena 公司); NanoPhotometer N60 型超微量分光光度计 (德国 Implen 公司)。

2 方法

2.1 网络药理学和分子对接

2.1.1 药物活性成分及作用靶点获取 利用中药系统药理学数据库与分析平台 (TCMSP) 数据库检索五加减正气散组方中药的有效成分和作用靶点, 以口服生物利用度 (OB) ≥ 30% 且类药性 (DL) ≥ 0.18 为筛选标准, 随后通过 Uniprot 数据库对所得靶点进行校准。对于 TCMSP 数据库未收录的药物, 借助中药分子机制生物信息学分析工具 (BATMAN-TCM) 和 HERB 本草组鉴数据库查找活性成分, 并导入 Swiss Target Prediction 数据库预测靶点。

2.1.2 疾病靶点获取 在 GeneCards、OMIM 与 TTD 数据库中, 以 “IBS-D” “D-IBS” “Irritable bowel syndrome with diarrhea” “Diarrhea irritable bowel syndrome” 为关键词进行搜索, 将所得结果进行整合并去重, 获得 IBS-D 的疾病靶点。

2.1.3 药物-疾病交集靶点获取 运用 Venny 2.1.0 平台对五加减正气散的药物作用靶点与 IBS-D 的疾病靶点进行交集靶点分析, 作为五加减正气散治疗 IBS-D 的潜在靶点。

2.1.4 蛋白-蛋白相互作用 (PPI) 网络构建 将交集靶点导入 STRING 平台, 物种设定为 “*Homo sapiens*”, 置信水平设置为 0.9, 隐藏自由节点, 得到 PPI 网络图及相关数据; 将结果以 tsv 文件格式导入 Cytoscape 3.10.3 软件, 并利用 CytoNCA 插件计算网络拓扑参数, 筛选出核心靶点并进行可视化。

2.1.5 “中药-活性成分-靶点-疾病” 网络构建 将五加减正气散药物活性成分和药物-疾病交集靶点导入 Cytoscape3.10.3 软件, 构建 “中药-活性成分-靶点-疾病” 网络并进行拓扑分析, 依据度值大小筛选核心活性成分。

2.1.6 基因本体 (GO) 功能和京都基因百科全书 (KEGG) 通路富集分析 将五加减正气散治疗 IBS-D 的可能靶点导入 DAVID 数据库, 进行 GO 和 KEGG 富集分析, 通过微生信平台对结果可视化处理。

2.1.7 分子对接 以度值排名前 5 的化合物作为配体, 靶点 TRAF6、IL17RA、转录因子 p65 (RELA)、白介素 6 (IL6)、肿瘤坏死因子 (TNF) 作为受体, 分别进行分子对接。利用 PubChem 数

据库获取活性成分的配体文件，在蛋白质结构数据库下载受体文件，运用 AutoDock Tools 1.5.7 软件进行分子对接以获取结合能，通过 GraphPad Prism 10.1.2 软件将对接结果以热图形式展示。

2.2 药物制备 番泻叶水浸液：取 100 g 番泻叶，加 8 倍量沸水，浸泡 25 min，纱布过滤，取滤液，重复上述过程 1 次，合并滤液，并浓缩成含生药 1 g/mL 的水浸液，即得，冷却后置于 4 ℃ 冰箱保存备用^[8]。

灌胃中药液：五加减正气散组方中药藿香 12 g、苍术 12 g、陈皮 10 g、厚朴 10 g、大腹皮 10 g、茯苓 20 g、谷芽 10 g，加水煎煮 2 次，过滤，滤液浓缩成含生药 0.84 g/mL 的药液；运脾化湿方组分中药藿香 12 g、苍术 12 g、茯苓 20 g，加水煎煮 2 次，过滤，滤液浓缩成含生药 0.44 g/mL 的药液；理气消导方组方中药陈皮 10 g、厚朴 10 g、大腹皮 10 g、谷芽 10 g，加水煎煮 2 次，过滤，滤液浓缩成含生药 0.40 g/mL 的药液；各中药液冷却后均置于 4 ℃ 冰箱保存备用。

2.3 造模 30 只 SD 大鼠适应性饲养 7 d 后，采用随机数字表法选取 5 只为空白组，剩余 25 只为造模组。参考文献 [8-9] 报道，造模组采用“番泻叶灌胃+束缚夹尾刺激+寒湿环境”复合病因造模法建立脾虚湿阻型 IBS-D 大鼠模型。造模组大鼠灌胃给予 1.0 g/mL 番泻叶水浸液（20 mL/kg），每天 2 次，连续 14 d。番泻叶干预 1 h 后，配合束缚夹尾刺激法（粗制棉绳束缚大鼠后肢，持续 30 min，期间用医用纱布裹绕大鼠尾巴，将夹尾夹夹在距离尾尖 1 cm 处，持续 5 min）和寒湿环境法（将大鼠置于 4 ℃ 左右的冰水中 30 min），其余时间按常规室温饲养。当造模组大鼠出现大便次数增多、大便溏稀、肛周秽浊、嗜卧少动、喜蜷聚堆、毛发枯槁、体质量减轻或增加缓慢等症状，且腹壁撤退反射（abdominal withdrawal reflex, AWR）评分和粪便含水量明显高于空白组大鼠时，提示脾虚湿阻型 IBS-D 模型构建成功。

2.4 分组与给药 造模结束后，25 只 IBS-D 大鼠随机分为模型组、亿活组、五加减正气散组、理气消导组、运脾化湿组，每组 5 只。基于课题组前期实验结果，按照 60 kg 成人临床等效剂量设置的五加减正气散给药剂量（8.06 g/kg）对 IBS-D 大鼠作用最优，因此本研究以该剂量为基础进行拆方实验。根据体表面积换算公式确定给药剂量，五加减正气散组、运脾化湿组、理气消导组分别灌胃给予

8.06、4.22、3.84 g/kg 对应中药液，亿活组灌胃给予 0.10 g/kg 亿活溶液，空白组和模型组大鼠灌胃给予生理盐水（10 mL/kg），每天 1 次，连续 14 d。

2.5 一般情况及粪便观察 造模及给药期间观察各组大鼠毛色、精神状态、饮食活动变化，定期记录各组大鼠体质量；在造模结束和末次给药后，于笼底放置滤纸集中收集每只大鼠 2 h 以内的粪便，参照布里斯托（Bristol）粪便性状分级对粪便进行评分^[10]；随后称重计为粪便湿重，于 60 ℃ 烘箱中烘干至恒重后称量粪便干重，粪便含水量 = [（粪便湿重 - 粪便干重）/ 粪便湿重] × 100%。

2.6 内脏敏感性评价 造模结束后和末次给药后，参照 AWR 评分标准对大鼠进行内脏敏感性评价^[11]。评分标准为：0 分，大鼠无明显行为变化；1 分，仅出现轻微头部运动，无身体运动；2 分，腹部肌肉轻微收缩，但腹部未离开固定装置表面；3 分，腹部肌肉收缩明显，腹部抬离装置表面；4 分，身体呈弓形，腹部及会阴部均抬离装置表面^[12]。AWR 测量前 12 h 禁食不禁水，用大小合适的透明容器盒限制大鼠运动。准备 1 mL 注射器并将其与 8F 导尿管相连，涂上石蜡油后将带气囊的 8F 导尿管插入大鼠肛门约 6 cm，并用医用胶带将其固定在尾根部。待大鼠完全平静后，经导管缓慢注入（27±1）℃ 的生理盐水至球囊，观察大鼠腹壁对肠腔球囊扩张刺激的反应。注水量分别为 0.2、0.4、0.6、0.8 mL，每次持续 15 s，评估大鼠的反应，每只大鼠测量 3 次，每次间隔 4 min，记录不同扩张容量下的 AWR 评分，评估各组大鼠的内脏敏感性。

2.7 样本采集 实验结束后，各组大鼠腹腔注射 3% 戊巴比妥钠（30 mg/kg）麻醉后开腹，经腹主动脉采血，室温静置 1 h 后，3 000 r/min 离心 15 min，取上清液并分装，-80 ℃ 保存备用。取血后迅速剖取结肠组织，生理盐水反复冲洗后，置于滤纸上吸干表面水分，取距回盲部约 2 cm 处的结肠段，剪取约 1 cm 结肠组织以 4% 多聚甲醛固定，其余结肠组织 -80 ℃ 保存。

2.8 HE 染色观察结肠组织病理形态 取 4% 多聚甲醛固定后的大鼠结肠组织，依次进行脱水、透明、浸蜡、包埋、切片、脱蜡、染色、封片，最后于显微镜下观察各组结肠组织的病理学变化，并使用显微成像系统采集图像。

2.9 ELISA 法检测血清 GAS、MTL 水平 取各组大鼠血清，按照 ELISA 试剂盒说明书规范操作，

于 450 nm 处测定吸光度，绘制标准曲线，并计算血清 GAS、MTL 水平。

2.10 qRT-PCR 法检测结肠组织 *TNF-α*、环氧合酶-2 (*COX-2*) mRNA 表达 取-80 ℃保存的结肠组织，使用总 RNA 提取试剂盒提取 RNA，超微量分光光度计测定其浓度及纯度。随后采用逆转录试剂盒将 RNA 逆转录为 cDNA，按照 FAST Taq SYBR Green qPCR Mix 试剂盒说明书操作，反应体系 20 μL。扩增条件为 95 ℃预变性 30 s；95 ℃变性10 s，60 ℃退火/延伸 30 s，40 个循环；熔解曲线为 95 ℃ 5 s，65 ℃ 1 min，95 ℃，40 ℃冷却 30 s。以β-actin 为内参，采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算 *TNF-α*、*COX-2* mRNA 相对表达量。引物序列见表 1，由武汉赛维尔生物科技有限公司合成。

表 1 引物序列

基因	引物序列(5'→3')	产物长度/bp
<i>TNF-α</i>	正向:CCAGGTTCCTTCAAGGGACAA	80
	反向:GGTATGAAATGGCAAATCGGCT	
<i>COX-2</i>	正向:CTCCTTGAACACGGACTTGCT	186
	反向:GTAAGGTTTCAGGAGAAGCGTT	
<i>β-actin</i>	正向:TGCTATGTTGCCCTAGACTTCG	240
	反向:GTTGGCATAGAGGTCCTTTACGG	

2.11 Western blot 法检测结肠组织 Claudin-1、Occludin、TRAF6、IL-17RA、NF-κB p65、p-NF-κB p65 蛋白表达 取-80 ℃保存的结肠组织，提取总蛋白，采用 BCA 法测定蛋白浓度，蛋白样品经 SDS-聚丙烯酰胺凝胶进行电泳分离，转至 PVDF 膜后使用封闭液室温封闭 15 min。随后分别加入一抗 Claudin-1 (1 : 4 000)、Occludin (1 : 10 000)、TRAF6 (1 : 1 000)、IL-17RA (1 : 5 000)、NF-κB p65 (1 : 10 000)、p-NF-κB p65 (1 : 10 000) 及 β-actin (1 : 10 000)，4 ℃孵育12~16 h。TBST 洗膜 3 次 (每次 5 min) 后，加入 HRP 标记的山羊抗兔二抗 (1 : 10 000)，室温孵育 1 h，TBST 再次洗膜 3 次 (每次 5 min)。最后加入特超敏 ECL 显影液，在暗室条件下曝光检测。实验独立重复 3 次，以 β-actin 为内参，使用 Image J 软件分析蛋白条带灰度值。

2.12 统计学分析 通过 GraphPad Prism 10.1.2 软件进行处理，符合正态分布的计量结果以($\bar{x}\pm s$)表示，采用 Shapiro-Wilk 检验与 Bartlett 检验分别评估数据的正态分布性与方差同质性。对满足参数检验假设的数据，多组间比较采用单因素方差分析及 Tukey 事后检验，方差不齐时采用Tamhane's T2 检验，不符合正态分布者采用 Kruskal-Wallis 非参数

检验。 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 网络药理学和分子对接

3.1.1 成分靶点与疾病靶点分析 获得五加减正气散 28 种活性成分及 544 个相关成分靶点，汇总去重后共获得 IBS-D 相关疾病靶点 3 112 个；两者交集靶点 157 个，可视化图见图 1A。

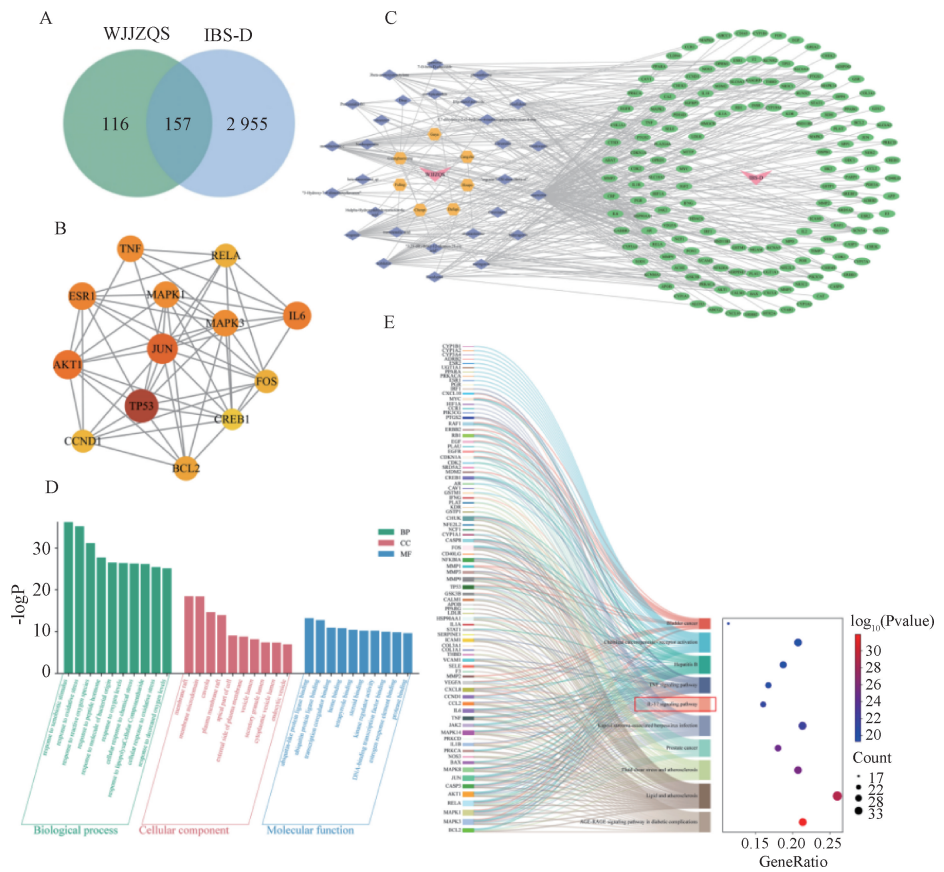
3.1.2 PPI 网络构建 将 157 个交集靶点导入 STRING 数据库，获得包含 144 个节点和 505 条边的 PPI 网络。利用 CytoNCA 2.1.6 插件计算 PPI 网络节点拓扑参数并按度值排序，排名前 13 位的靶点包括 TNF、RELA、IL6、蛋白激酶 (AKT1) 等，推测可能是五加减正气散治疗 IBS-D 的核心靶点，见图 1B。

3.1.3 “中药-活性成分-靶点-疾病”网络构建 根据度值筛选出的前 5 位活性成分为槲皮素、黄芩素、柚皮素、川陈皮素、尼泊尔鸢尾异黄酮，可作为五加减正气散的关键成分，见图 1C。

3.1.4 GO 功能与 KEGG 通路富集分析 根据 $P<0.05$ ，GO 富集分析共得到 2 868 个条目，其中生物过程 (BP) 相关条目 2 519 条，主要包括氧化应激反应、腺体发育、上皮细胞增殖等；细胞组成 (CC) 相关条目共 113 条，主要与膜筏、膜微区、小窝等密切相关；分子功能 (MF) 相关条目 235 条，主要涉及泛素样蛋白连接酶结合、转录共调节因子活性、蛋白激酶调节活性等，见图 1D。KEGG 富集分析共得到 194 条通路，包括糖尿病并发症中的晚期糖基化终末产物-晚期糖基化终末产物受体 (AGE-RAGE) 信号通路、脂质与动脉粥样硬化、IL-17 信号通路、TNF 信号通路及 C 型凝集素受体信号通路等。结合既往文献，剔除明显不相关结果，选择排名靠前的 IL-17 信号通路进行分子对接验证，见图 1E。

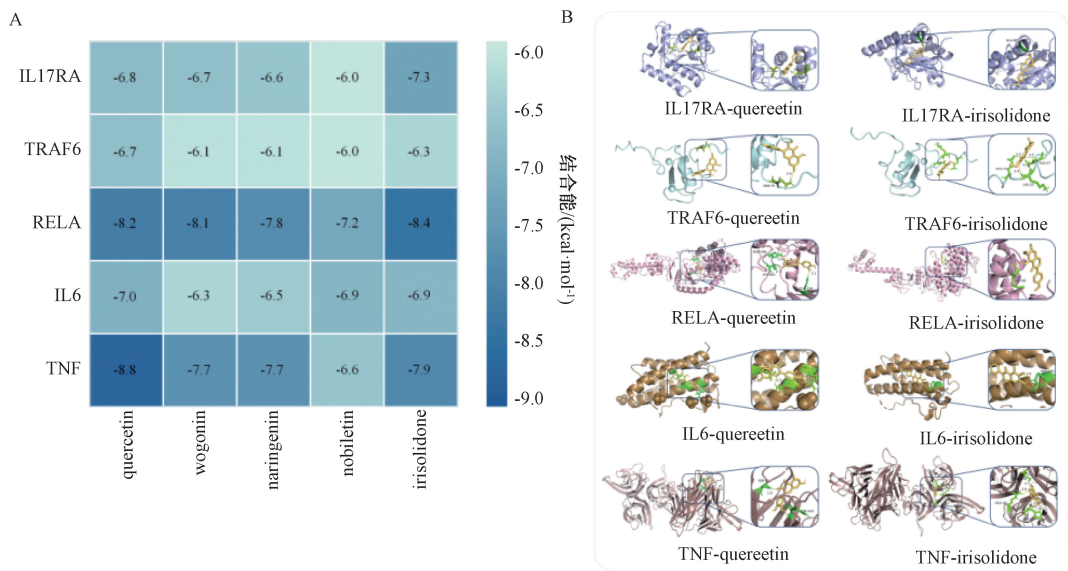
3.1.5 分子对接 IL-17RA/TRAF6/NF-κB 通路是 IL-17 信号通路的重要分支，将五加减正气散的关键成分分别与该通路上的重要靶点 (RELA、IL6、TNF、IL17RA、TRAF6) 进行分子对接验证。结果显示，5 个核心靶点蛋白与 5 个主要活性成分的结合能均小于-5.0 kcal/mol，说明这些成分与目标蛋白有较好的结合能力，见图 2。

3.2 五加减正气散及其拆方对 IBS-D 大鼠一般情况及粪便的影响 与空白组比较，模型组大鼠背毛杂乱晦暗，肛周秽浊，精神欠佳，进食及活动量减少，体质量降低 ($P<0.01$)，粪便含水量及粪便



注：A 为药物-疾病交集靶点韦恩图，B 为核心靶点 PPI 网络图，C 为“中药-活性成分-靶点-疾病”网络图，D 为 GO 分析，E 为 KEGG 分析。

图 1 五加减正气散治疗 IBS-D 的网络药理学分析



注：A 为结合能热图，B 为可视图。

图 2 核心成分与重要靶点分子对接结果

Bristol 评分均升高 ($P<0.01$)。第 28 天，与模型组比较，各给药组大鼠背发光泽，肛周清洁，精神好转，进食及活动量增加，粪便含水量及粪便 Bristol 评分均不同程度降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)；

五加减正气散组大鼠体质量增加 ($P<0.05$)，其余给药组体质量无明显变化 ($P>0.05$)。与五加减正气散组比较，理气消导组大鼠粪便含水量和粪便 Bristol 评分升高 ($P<0.05$, $P<0.01$)。见表 2~3。

表 2 五加减正气散及其拆方对 IBS-D 大鼠体质量的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=5$)

组别	第 1 天	第 7 天	第 14 天	第 21 天	第 28 天
空白组	271.68±4.84	314.02±11.28	352.84±16.09	378.34±30.47	395.18±37.52
模型组	269.46±3.69	272.32±2.76**	287.34±5.54**	301.74±16.34**	307.82±22.30**
亿活组	275.22±6.01	284.70±13.82	299.38±10.47	318.78±17.08	332.16±24.32
五加减正气散组	276.40±4.57	277.74±22.21	301.32±11.22	354.12±9.74##	361.74±11.66#
运脾化湿组	272.24±8.60	275.08±17.58	284.80±19.00	329.60±28.19	342.98±29.06
理气消导组	275.40±7.62	285.60±15.08	295.24±13.82	341.24±14.24	344.76±14.25

注：与空白组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，# $P<0.05$ ，## $P<0.01$ 。

表 3 五加减正气散及其拆方对 IBS-D 大鼠粪便的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=5$)

组别	粪便含水量/%	粪便 Bristol 评分/分
空白组	58.57±3.67	3.40±0.55
模型组	82.00±4.75**	6.60±0.55**
亿活组	71.93±3.70##	4.40±0.55##
五加减正气散组	64.96±5.31##	4.00±0.71##
运脾化湿组	66.86±3.66##	4.60±0.55##
理气消导组	73.58±2.86#△	5.40±0.55#△△

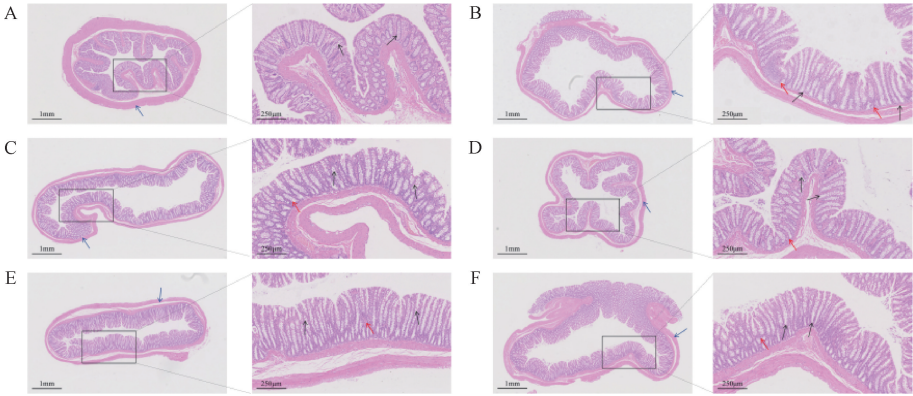
注：与空白组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，# $P<0.05$ ，## $P<0.01$ ；与五加减正气散组比较，△ $P<0.05$ ，△△ $P<0.01$ 。

3.3 五加减正气散及其拆方对 IBS-D 大鼠内脏敏感性的影响 与空白组比较，在不同扩张容量下，模型组大鼠内脏敏感性均升高 ($P<0.05$, $P<0.01$)；与模型组比较，在 0.4、0.6、0.8 mL 的

表 4 五加减正气散及其拆方对 IBS-D 大鼠内脏敏感性的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=5$)

组别	扩张容量/mL			
	0.2	0.4	0.6	0.8
空白组	0.40±0.51	0.54±0.52	1.60±0.51	2.20±0.56
模型组	1.07±0.46*	2.00±0.54**	2.60±0.51**	3.47±0.52**
亿活组	0.87±0.64	1.27±0.46##	1.87±0.64##	2.67±0.72##
五加减正气散组	0.67±0.62	0.80±0.56##	1.80±0.56##	2.40±0.51##
运脾化湿组	0.93±0.70	1.13±0.52##	1.87±0.64##	2.53±0.52##
理气消导组	0.93±0.59	1.13±0.64##	2.00±0.38#	2.73±0.70#

注：与空白组比较，* $P<0.05$ ，** $P<0.01$ ；与模型组比较，# $P<0.05$ ，## $P<0.01$ 。



注：A 为空白组，B 为模型组，C 为亿活组，D 为五加减正气散组，E 为运脾化湿组，F 为理气消导组。红色箭头指示炎性细胞，黑色箭头指示隐窝及杯状细胞，蓝色箭头指示肌层。

图 3 五加减正气散及其拆方对 IBS-D 大鼠结肠组织病理形态的影响 (HE 染色, $\times 30$, $\times 100$)

3.5 五加减正气散及其拆方对 IBS-D 大鼠血清 MTL、GAS 水平的影响 与空白组比较，模型组大

扩张容量下，各给药组大鼠内脏敏感性均降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)，在 0.2 mL 扩张容量下，各给药组大鼠内脏敏感性无明显变化 ($P>0.05$)。见表 4。

3.4 五加减正气散及其拆方对 IBS-D 大鼠结肠组织病理形态的影响 空白组大鼠结肠组织结构清晰，隐窝完整且排列整齐，杯状细胞丰富，无炎性细胞浸润；模型组结肠组织结构紊乱，肌层明显变薄，隐窝数量减少，排列不规则，杯状细胞丢失，可见较多炎性细胞浸润；各给药组结肠组织结构较模型组清晰，肌层厚度有所增加，隐窝结构相对完整，排列趋于有序，杯状细胞数量回升，炎性细胞浸润减少。见图 3。

鼠血清 MTL、GAS 水平降低 ($P<0.01$)；与模型组比较，五加减正气散组、理气消导组、亿活组血

清 MTL、GAS 水平均升高 ($P<0.05$, $P<0.01$), 运脾化湿组 GAS 水平升高 ($P<0.01$); 与五加减正气散组比较, 运脾化湿组 GAS 水平降低 ($P<0.05$)。见表 5。

表 5 五加减正气散及其拆方对 IBS-D 大鼠血清 MTL、GAS 水平的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=5$)

组别	GAS/(ng·L ⁻¹)	MTL/(ng·L ⁻¹)
空白组	56.27±14.40	145.34±24.42
模型组	9.70±2.68**	91.89±5.30**
亿活组	25.02±2.15 ^{##}	121.47±12.39 [#]
五加减正气散组	40.26±3.18 ^{##}	122.40±8.47 [#]
运脾化湿组	25.87±3.73 ^{##△}	104.87±5.61
理气消导组	37.68±3.19 ^{##}	119.92±12.76 [#]

注: 与空白组比较, ** $P<0.01$; 与模型组比较, [#] $P<0.05$, ^{##} $P<0.01$; 与五加减正气散组比较, [△] $P<0.05$ 。

3.6 五加减正气散及其拆方对 IBS-D 大鼠结肠组织 *TNF-α*、*COX-2* mRNA 表达的影响 与空白组比较, 模型组大鼠结肠组织 *TNF-α*、*COX-2* mRNA 表达升高 ($P<0.01$); 与模型组比较, 五加减正气散组和运脾化湿组结肠组织 *TNF-α*、*COX-2* mRNA 表达均降低 ($P<0.05$, $P<0.01$), 亿活组 *TNF-α* mRNA 表达降低 ($P<0.01$), *COX-2* mRNA 表达无明显变化 ($P>0.05$), 理气消导组 *TNF-α*、*COX-2* mRNA 表达无明显变化 ($P>0.05$); 与五加减正气散组比较, 理气消导组 *TNF-α* mRNA 表达升高 ($P<0.01$)。见表 6。

表 6 五加减正气散及其拆方对 IBS-D 大鼠结肠组织 *TNF-α*、*COX-2* mRNA 表达的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

组别	<i>TNF-α</i>	<i>COX-2</i>
空白组	1.20±0.34	1.03±0.04
模型组	16.87±2.30**	5.56±1.09**
亿活组	8.75±2.75 ^{##}	3.20±1.13
五加减正气散组	4.35±1.21 ^{##}	1.05±0.28 ^{##}
运脾化湿组	6.99±1.33 ^{##}	2.43±0.89 [#]
理气消导组	12.05±3.06 ^{△△}	3.32±1.44

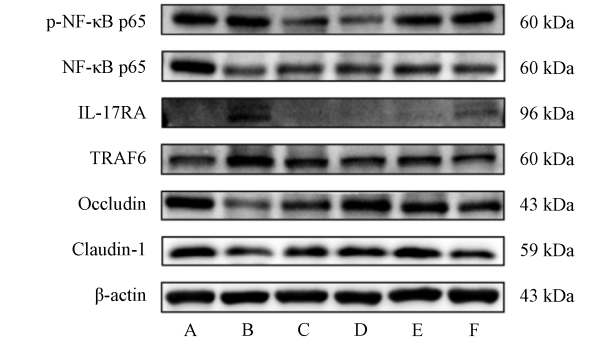
注: 与空白组比较, ** $P<0.01$; 与模型组比较, [#] $P<0.05$, ^{##} $P<0.01$; 与五加减正气散组比较, ^{△△} $P<0.01$ 。

表 7 五加减正气散及其拆方对 IBS-D 大鼠结肠组织 Claudin-1、Occludin、IL-17RA、TRAF6、NF-κB p65、p-NF-κB p65 蛋白表达的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

组别	Claudin-1	Occludin	IL-17RA	TRAF6	p-NF-κB p65/NF-κB p65
空白组	0.98±0.11	1.02±0.15	0.31±0.07	0.72±0.14	0.84±0.08
模型组	0.51±0.07*	0.43±0.09**	0.89±0.13**	1.08±0.10**	2.13±0.23**
亿活组	0.76±0.22	0.70±0.08 [#]	0.40±0.08 ^{##}	0.87±0.06	1.22±0.12 ^{##}
五加减正气散组	0.98±0.14 [#]	0.99±0.07 ^{##}	0.33±0.09 ^{##}	0.73±0.07 ^{##}	0.97±1.14 ^{##}
运脾化湿组	0.93±0.14 [#]	0.91±0.07 ^{##}	0.36±0.04 ^{##}	0.78±0.05 ^{##}	1.22±0.14 ^{##}
理气消导组	0.68±0.08	0.68±0.01 [△]	0.65±0.07 ^{#△△▲▲}	0.83±0.04 [#]	1.64±0.13 ^{#△△▲}

注: 与空白组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$; 与模型组比较, [#] $P<0.05$, ^{##} $P<0.01$; 与五加减正气散组比较, [△] $P<0.05$, ^{△△} $P<0.01$; 与运脾化湿组比较, [▲] $P<0.05$, ^{▲▲} $P<0.01$ 。

3.7 五加减正气散及其拆方对 IBS-D 大鼠结肠组织 Occludin、Claudin-1、IL17RA、TRAF6、NF-κB p65、p-NF-κB p65 蛋白表达的影响 与空白组比较, 模型组大鼠结肠组织 IL-17RA、TRAF6、p-NF-κB p65/NF-κB p65 表达升高 ($P<0.01$), Occludin、Claudin-1 表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)。与模型组比较, 五加减正气散组、运脾化湿组和理气消导组大鼠结肠组织 IL-17RA、TRAF6、p-NF-κB p65/NF-κB p65 表达均降低 ($P<0.05$, $P<0.01$), 亿活组 IL17RA、p-NF-κB p65/NF-κB p65 表达降低 ($P<0.01$), TRAF6 表达无明显变化 ($P>0.05$); 五加减正气散组和运脾化湿组 Occludin、Claudin-1 表达升高 ($P<0.05$, $P<0.01$), 亿活组和理气消导组 Occludin 表达升高 ($P<0.05$), Claudin-1 表达无明显变化 ($P>0.05$)。与五加减正气散组和运脾化湿组比较, 理气消导组 IL-17RA、p-NF-κB p65/NF-κB p65 表达升高 ($P<0.05$, $P<0.01$)。见图 4、表 7。



注: A 为空白组, B 为模型组, C 为亿活组, D 为五加减正气散组, E 为运脾化湿组, F 为理气消导组。

图 4 各组大鼠结肠组织 Claudin-1、Occludin、IL-17RA、TRAF6、NF-κB p65、p-NF-κB p65 蛋白条带

4 讨论

IBS-D 病位在肠, 与脾、胃密切相关, 脾虚湿阻为该病的关键病机。《温病条辨》记载五加减正

气散主治“秽湿着里，脘闷便泄”，临床干预 IBS-D 疗效确切^[5-7]。纵观全方，藿香、苍术辛温芳香，功擅化浊醒脾，与淡渗利水之茯苓合用，共奏运脾化湿之功，湿化则泄泻自止；陈皮、大腹皮、厚朴苦温，力专降气除胀，与甘平消食之谷芽合用，共奏理气消导之功，气畅则痞满自除。五加减正气散于辛开苦降中寓以甘淡，运脾化湿与理气消导并重，后世学者总结吴鞠通组方特点时亦指出，其善用药材性味理论指导制方，强调性味合化的叠加效应^[13-14]。基于此，本研究依性味功效将其拆分为运脾化湿方（藿香、苍术、茯苓）和理气消导方（陈皮、大腹皮、厚朴、谷芽），并探究五加减正气散及拆方对 IBS-D 的潜在作用，比较其功效侧重。

网络药理学及分子对接结果提示，IL-17RA/ TRAF6/NF- κ B 通路可能是五加减正气散干预 IBS-D 的关键途径，该信号通路的启动依赖 IL-17 家族细胞因子与受体复合物的动态组装^[15]。已有研究表明，IBS-D 患者血清 IL-17A 水平升高，且与病情严重程度呈正相关^[16-17]。IL-17A 与特异性受体 IL-17RA 结合后，募集下游 TRAF6 并促进其泛素化修饰，继而激活 NF- κ B 信号轴，诱导 TNF- α 、COX-2、IL-6 等多种促炎因子释放，形成炎症级联反应，进一步破坏肠屏障完整性^[18]。屏障受损后，未消化食物抗原、炎性介质、细菌及其代谢产物等更易穿透黏膜，进一步放大炎症效应，诱发内脏高敏感，干扰脑肠互动，最终加重腹痛、腹泻等症状^[19-20]。肠机械屏障是肠屏障功能的结构基础，由肠黏膜上皮细胞和细胞间的紧密连接蛋白构成^[21]。Claudin-1 和 Occludin 是重要的紧密连接蛋白，前者直接影响细胞间通透性，后者参与维持封闭结构的稳定性^[22-23]。五加减正气散可降低大鼠结肠组织中 IL-17RA、TRAF6、p NF- κ B/NF- κ B 蛋白表达，升高 Claudin-1、Occludin 蛋白表达，抑制 TNF- α 、COX-2 mRNA 表达。HE 染色显示，五加减正气散组炎性细胞浸润减少，结肠组织更趋完整，隐窝排列更为规则，进一步印证该方可有效抑制肠道炎症，修复肠屏障功能，从而对脾虚湿阻型 IBS-D 发挥治疗作用。

比较拆方功效发现，运脾化湿组可抑制结肠 IL-17RA/ TRAF6/NF- κ B 通路激活，降低 TNF- α 、COX-2 mRNA 表达，并上调 Claudin-1、Occludin 蛋白表达，且能有效改善粪便性状，其疗效与五加减正气散组相近，提示运脾化湿组在抑制肠道炎症、修复肠屏障功能、缓解腹泻方面，较理气消导组更

具综合优势。胃肠道动力异常是 IBS-D 发病的关键机制之一，IBS-D 患者的胃排空时间通常长于健康人群，临床可见腹胀、痞满等症状^[24]。GAS 和 MTL 是反映胃动力的重要激素，其中 GAS 由胃窦和十二指肠的 G 细胞分泌，能刺激胃酸分泌、促进胃黏膜生长并增强胃部蠕动；MTL 由十二指肠的 M 细胞分泌，可促进胃肠移行复合运动、加快胃排空并增加摄食^[25-26]。既往研究表明，IBS-D 患者及动物模型的血清 GAS、MTL 水平较健康对照组下降，提示胃肠运动节律受扰，食物消化受限^[27-29]。本研究中模型组大鼠血清 MTL、GAS 水平均下降，理气消导组治疗后可提升两者水平，其程度与五加减正气散组相似，提示理气消导组在增强消化功能、促进胃动力方面，较运脾化湿组更具综合优势。

综上所述，五加减正气散及其拆方通过抑制 IL-17RA/ TRAF6/NF- κ B 通路，有效降低促炎因子 TNF- α 、COX-2 表达，上调紧密连接蛋白 Claudin-1、Occludin 表达，提升血清 GAS、MTL 水平，从而减轻肠道炎症，修复肠黏膜屏障，增强胃动力，缓解 IBS-D 相关症状，全方综合疗效最佳，两拆方功效各有侧重。本研究仍存在许多局限，首先，仅围绕 IL-17RA/ TRAF6/NF- κ B 一条通路开展验证，未能全面揭示五加减正气散多靶点多途径的作用机制；其次，缺乏对方中单味药物及其活性成分的分层验证。未来可结合多组学、液相色谱-质谱联用等技术，深入探讨五加减正气散配伍的协同增效机理，为其临床应用提供科学依据，并为 IBS-D 的规范化治疗提供新思路。

参考文献：

[1] 卞立群, 黄绍刚, 魏 玮, 等. 肠易激综合征中医诊疗专家共识 (2024) [J]. 中医杂志, 2024, 65(18): 1948-1956.

[2] Arif T B, Ali S H, Bhojwani K D, *et al.* Global prevalence and risk factors of irritable bowel syndrome from 2006 to 2024 using the Rome III and IV criteria; a meta-analysis [J]. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 2025, 37(12): 1314-1325.

[3] Saidara E, Barlow G M, Pimentel M. The evolution of irritable bowel syndrome as a group of organic diseases; a narrative review [J]. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*, 2025, 19(9): 1007-1020.

[4] Liu Q, Shi Z M, Jiang Y, *et al.* Efficacy and safety of Chinese botanical drug Si Shen Wan in irritable bowel syndrome; a meta-analysis and trial sequential analysis of randomized controlled trials [J]. *Front Pharmacol*, 2025, 16: 1534904.

[5] 潘海迪, 梅 笑, 王子明, 等. 五加减正气散联合耳穴压豆

治疗脾虚湿阻型腹泻型肠易激综合征[J]. 时珍国医国药, 2026, 37(6): 1086-1091.

[6] 梅 笑, 王 伟, 李晓菲, 等. 穴位贴敷治疗脾虚湿阻型腹泻型肠易激综合征: 随机对照试验[J]. 针刺研究, 2025, 50(11): 1317-1324.

[7] 李晓菲. 藿苓止泻膏治疗脾虚湿阻型 IBS-D 临床观察及网络药理学研究[D]. 济南: 山东中医药大学, 2024.

[8] Li Y G, Chen Y Y, Liao Z Y, *et al.* Wentongganpi Decoction alleviates diarrhea-predominant irritable bowel syndrome by improving intestinal barrier[J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 334: 118544.

[9] 黎豫川, 张远哲, 杨元凤, 等. 白术-木香药对对脾虚腹泻型肠易激综合征大鼠肠道菌群与短链脂肪酸代谢的调节作用[J]. 中国药房, 2024, 35(3): 304-310.

[10] Chen Q, Zhang H, Sun C Y, *et al.* Evaluation of two laboratory model methods for diarrheal irritable bowel syndrome[J]. *Mol Med*, 2023, 29(1): 5.

[11] Wang Q X, Liu X X, Song D X, *et al.* Exploring the mechanism and effective compounds of Changan Granule on diarrhea-predominant irritable bowel syndrome *via* regulating 5-hydroxytryptamine signaling pathway in brain-gut axis[J]. *Phytomedicine*, 2025, 136: 156350.

[12] Yuan Z H, Yang X P, Wang X C, *et al.* Melatonin alleviates diarrhea and visceral hypersensitivity in rats with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome by modulating of the TLR4/MyD88/NF- κ B pathway[J]. *BMC Gastroenterol*, 2025, 25(1): 715.

[13] 孙帅玲, 马晓北. 吴鞠通对性味配伍应用的继承与发展探析[J]. 中国中医基础医学杂志, 2024, 30(5): 788-791.

[14] 王一帆, 赵百孝. 基于《温病条辨》和《伤燥论》探析吴鞠通与张节辨治燥邪异同[J]. 环球中医药, 2025, 18(10): 2113-2116.

[15] 刘 洋, 陈荧荧, 魏子茹, 等. IL-17 信号通路调控机制及其在炎症性疾病中的干预策略研究[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2026, 42(3): 252-258.

[16] Choghakhori R, Abbasnezhad A, Hasanvand A, *et al.* Inflammatory cytokines and oxidative stress biomarkers in irritable bowel syndrome: Association with digestive symptoms and quality of life[J]. *Cytokine*, 2017, 93: 34-43.

[17] Huang X J, Li A, Long P, *et al.* The Neutrophil-to-albumin ratio (NAR): A novel index in relation to clinical symptoms, quality of life, and psychological status in diarrhea-predominant irritable bowel syndrome (IBS-D) [J]. *J Inflamm Res*, 2024, 17: 3685-3695.

[18] Raj D, Verma A K, Mathur R, *et al.* Fine-tuning immunity: ubiquitin-dependent regulation of interleukin-17A expression by Th17 cells[J]. *Front Immunol*, 2025, 16: 1614409.

[19] Gao J, Lee A A, Abtahi S, *et al.* Low fermentable oligosaccharides, disaccharides, monosaccharides, and polyols diet improves colonic barrier function and mast cell activation in patients with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome: a mechanistic trial[J]. *Gastroenterology*, 2026, 170 (1): 132-147.

[20] Rettura F, Lambiase C, Tedeschi R, *et al.* Mucoprotectants and gut barrier: mechanisms of action and clinical applications in IBS. Is there a possible role? [J]. *Front Pharmacol*, 2025, 16: 1538791.

[21] Neurath M F, Artis D, Becker C. The intestinal barrier: a pivotal role in health, inflammation, and cancer[J]. *Lancet Gastroenterol Hepatol*, 2025, 10(6): 573-592.

[22] Awad K, Barmeyer C, Bojarski C, *et al.* Epithelial barrier dysfunction in diarrhea-predominant irritable bowel syndrome (IBS-D) *via* downregulation of Claudin-1[J]. *Cells*, 2023, 12 (24): 2846.

[23] Moonwiriyaakit A, Pathomthongtawecheai N, Steinhagen P R, *et al.* Tight junctions: from molecules to gastrointestinal diseases[J]. *Tissue Barriers*, 2022, 11(2): 2077620.

[24] 李彦楠, 杨丽旋, 赵钟辉, 等. 《2020 年中国肠易激综合征专家共识意见》解读[J]. 中国临床医生杂志, 2021, 49(10): 1151-1155.

[25] Huang J, Watanabe A, Kanaya M, *et al.* Motilin stimulates food intake linked to gastric motility in *Suncus murinus*: Simultaneous recordings of food intake and gastric motility in the conscious state[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2025, 122 (28): e2424363122.

[26] 上官琨瑶, 尹露莹, 贾梦鑫, 等. 生白术健脾有效部位及活性成分的分离鉴定[J]. 中草药, 2025, 56(9): 3058-3072.

[27] 梁 金, 陈 茜, 张 璇. 痞泻四神汤腹泻型肠易激综合征的胃肠激素水平变化及临床意义观察[J]. 世界中医药, 2020, 15(1): 71-75; 80.

[28] 刘佳星, 王彦礼, 杨伟鹏, 等. 四神丸对 IBS-D 大鼠肠道屏障影响的实验研究[J]. 中药药理与临床, 2019, 35(3): 24-28.

[29] 王 敏, 曹雨微, 张 哲, 等. 温针灸治疗肠易激综合征肝郁脾虚证的疗效及对胃肠道激素的影响[J]. 针灸临床杂志, 2025, 41(10): 50-56.